(5)
Chaves Batista
13/9/57

SEPARATUM

Vol. VIII 25-VI-1957 Fasc. 2

MYCOPATHOLOGIA

ET

MYCOLOGIA APPLICATA

FUNDATORES:

R. CIFERRI

P. REDAELLI

EDENDA CURAVIT:

TIBOR BENEDEK

Chicago, Ill.

EDITORES:

F. de Almeida, São Paulo — A. E. de Arêa Leão, Rio de Janeiro — G. Arnaud, Versailles — A. Azzi, Torino — E. Baldacci, Milano — E. Baudys, Brno — K. B. Boedijn, Bogor — S. R. Bose, Calcutta — F. T. Brooks, Cambridge — A. L. Carrión, San Juan, P. R. — A. Castellani, Lisboa — E. Castellani, Sassari — A. Catanei, Alger — K. Cejp, Praha — A. Chaves Batista, Pernambuco — A. Ciccarone, Roma — N. F. Conant, Durham, N. C. — J. N. Couch, Chapel Hill, N.C. — J. Coudert, Lyon — S. A. Dasgupta, Lucknow — E. D. Delamater, New York — C. W. Dodge, St. Louis, Mo. — C. W. Emmons, Washington, D.C. — G. Falchi, Pavia — G. W. Fischer, Pullman, Wash. — G. Florenzano, Firenze — A. da Fonseca, Rio de Janeiro — N. Fries, Uppsala — J. A. Gammel, Cleveland, Ohio — E. J. Gilbert, Paris — L. Grigoraki, Marseille — S. Hagiwara, Tokyo — E. Hazen, Albany N.Y. — T. Hemmi, Kyoto — S. Ito, Sapporo — D. Janke, Marburg/Lahn — R. St. John-Brooks, London — J. Jørstad, Oslo — F. D. Kern, State College, Pa. — J. E. McKinnon, Montevideo — O. de Magalhaes, Belo Horizonte — A. v. Mallinkrodt-Haupt, Köln — P. Martens, Louvain — D. S. Martin, Durham, N.C. — J. Meyer, Strasbourg — J. H. Miller, Athens, Ga. — S. Milochevitch, Beograd — M. Moore, St. Louis, Mo. — R. Morquer, Toulouse — E. M. Mrak, Berkeley Calif. — J. A. Nannfeldt, Upsala — P. Negroni, Buenos Aires — W. J. Nickerson, New Brunswick, N.J. — F. L. Niño, Buenos Aires — T. Ørskov, København — Pereira Filho, Porto Alegre — A. Pijper, Pretoria — A. Pilat, Praha — A. Pinto Viegas, Campinas — B. Peyronel, Torino — J. Politis, Athènes — G. Pollacci, Pavia — V. Puntoni, Roma — I. Ramsbottom, London — T. Rayss, Jerusalem — I. Reichert, Rehovot — F. Reiss, New York — H. da Rocha Lima, São Paulo — P. Rogers, New York — K. Sakaguchi, Tokyo — R. Sartory, Strasbourg — G. H. Scherr, Chicago — F. J. Seaver, New York — R. Singer, Tucuman — A. H. Smith, Ann Arbor, Mich. — F. K. Sparrow, Ann Arbor, Mich. — J. A. Stevenson, Beltsville, Md. — Y. Takahashi, Tokyo — R. V. Talice, Montevideo — M. J. Thirumalachar, Malleswaram — Ch. Thorn, Washington, D.C. — R. A. Toro, Washington, D.C. — A. S. Traaen, Ås — A. Trotter, Portici — A. C. Ukil, Calcutta — R. Vanbreuseghem, Anvers — I. Ch. Verbunt, Djakarta — C. Vermeil, Tunis — O. Verona, Pisa — S. A. Waksman, New Brunswick, N.J. — L. E. Wehmeyer, Ann Arbor, Mich. — R. G. Werner, Nancy — J. Westerdijk, Baarn.

A. CHAVES BATISTA e HERALDO DE SILVA MAIA

Universidade do Recife — Instituto de Micologia (Publicação No 5) (15.1.1955)

ESTUDO TAXONÔMICO DE UM NOVO ASPERGILLACEAE

UITGEVERIJ Dr. W. JUNK — DEN HAAG — 1957

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE
14 OCT 1957

ESTUDO TAXONÔMICO DE UM NOVO ASPERGILLACEAE

A. Chaves Batista e Heraldo de Silva Maia [1])

UNIVERSIDADE DO RECIFE — INSTITUTO DE MICOLOGIA, (Publicação No 5)

(15.1.1955)

(Com 18 figuras)

O trabalho em tela focalisa a descrição de um novo *Aspergillaceae* com que vimos lidando de há muito, o qual, ante suas caracteristicas morfológicas, se sitúa entre os organismos de estrutura complexa, por suas diversas fórmas, que são antes de tudo o produto de variação fenotípica, de causa até agora ignorada.

As observações que conseguimos reunir a propósito da diversificação do comportamento dêsse fungo sôbre diferentes meios artificiais de cultura afastam quasi que inteiramente das cogitações, a influência da qualidade do meio, sobretudo a da presença de possiveis substâncias estimulantes, como determinante das modificações do tipo de seus conidioforos, em virtude de os nossos estudos haverem sido conduzidos sempre sôbre os mesmos meios sinteticos, de elaboração industrial.

Algum fator estranho, cuja atuação não nos foi dado notar e, próprio do ambiente ou relacionado com o genoplasma, certamente é o indutor das transformações a que está sujeito o aparelho de frutificação conidial dêsse fungo.

Nenhuma investigação de natureza genetica, porém, logramos executar, para o esclarecimento dessa importante questão; nem conseguimos cleistotecios ou simples órgãos sexuais diferençados, em todos os meios em que o fungo se desenvolveu, que servissem de estímulo a uma pesquisa nesse sentido.

O fato marcante da definição estrutural continuou sendo assim a alteração de seu aspecto morfológico, o fungo apresentando-se ora com conidioforos de vesiculas ramificadas, ora com conidioforos de vesiculas normais, e ainda com conidioforos de vesiculas portadoras de esterigmas transformados em filamentos, como pseudo-conidioforos, estereis, entretanto.

Todas essas modificações ocorrem em qualquer dos meios adiante citados, mas, frequentemente, uma determinada variação se mostra predominante numa certa linhagem e sôbre certo meio de cultivo, para logo desaparecer êsse predomínio, com a transferência do fungo para outra placa de Petri, contendo a mesma qualidade do meio ou meio de natureza distinta.

[1]) Os autores agradecem a D. Marilene Maranhão Moreira, a colaboração prestada no curso dêste trabalho.

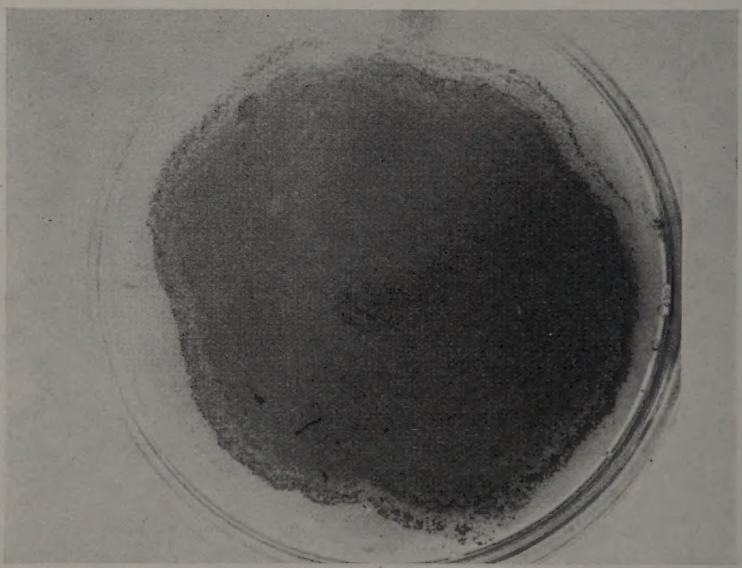

Fig. 1. *Aspergillus fasciculatum* Batista e Maia, n. sp. Colônia, aos 10 dias, em Czapek-agar, neutro. Orig.

A variabilidade da morfologia dos conidioforos aparece como um detalhe de grande significação na taxonomia dêsse fungo, desde quando se faz mistér apreciar a sua ocurrência, previamente, para que possa ter lugar a diagnose específica.

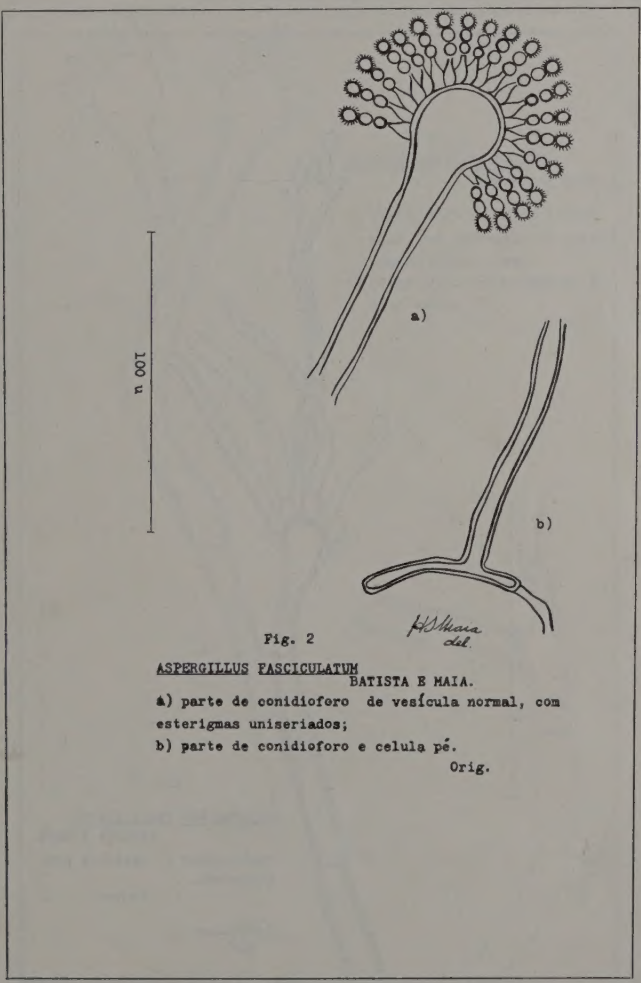

Fig. 2

ASPERGILLUS FASCICULATUM BATISTA E MAIA.

a) parte de conidioforo de vesícula normal, com esterigmas uniseriados;

b) parte de conidioforo e celula pé.

Orig.

Fig. 2.

O cultivo da *A. fasciculatum* n. sp. sôbre o meio de Czapek-agar-neutro progride rapidamente, alcançando as colonias de 3—9 cms. de diâmetro, aos 10—12 dias e à temperatura ambiente de 26—28°C.

As colonias definem-se como planas, tenues, de micélio vegetativo submerso, hialino, depois aereo, flocoso, inconspicuamente zonadas, com a area central e as

margens de tonalidade verde-amarelado, Fig. 1, homogeneamente esporuladas; exsudato e odor ausentes; cleistotecios ausentes; esclerocios produzidos por algumas linhagens, escassos, e não formados por outras; quando presentes são brancos, de começo, tornando-se depois negros, globoso-deprimidos ou de fórma irregular, e de textura parenquimática; reverso plano, incolor a principio, depois roseo-amarelado, de bordos esverdeados ou de coloração castanho-clara.

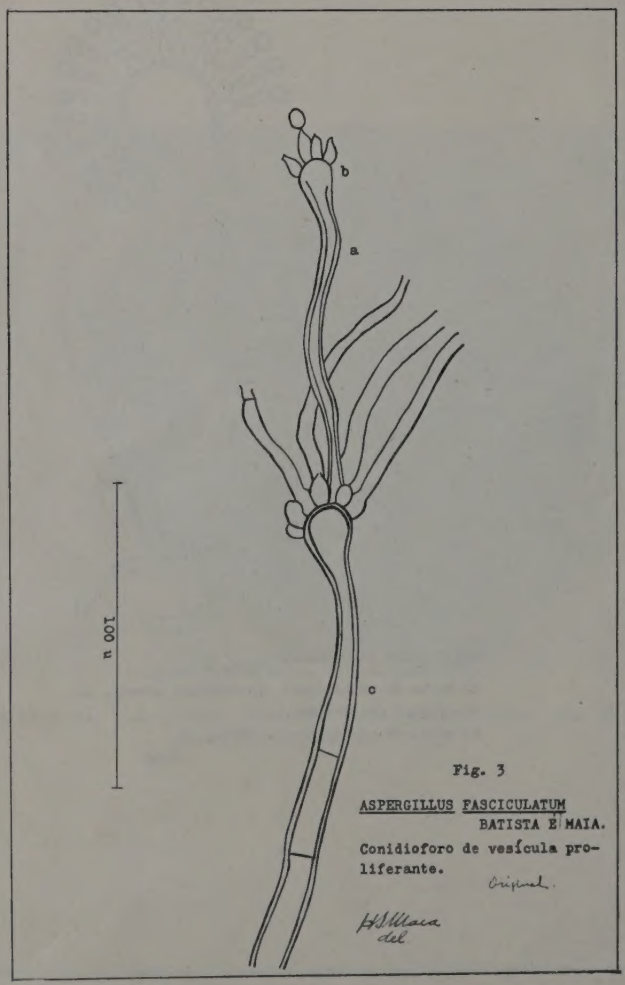

Fig. 3.

Conidioforos desenvolvidos diretamente do substrato, suportados por celula pé estreita (narrow foot cell), de onde se vão alargando gradualmente, na direção do apice, eretos, de paredes finas, coradas de amarelo ou esverdeadas, ligeiramente-rugosas ou lisas, curtos, de 62,5—175 × 5—7, 5μ nas linhagens (strains) em que a região apical se entumesce em uma só vesícula normal Fig. 2 ou em vesícula proliferante em pseudo-conidioforos Fig. 3, e longos, de 675—1643 × 14—17μ, quando

apresentam o apice bifurcado ou com fasciculos de 3 e 4 ramos; em alguns „strains" os conidióforos originam-se tambem de hifas aereas, Fig. 4, b. Os conidióforos são uni ou pluri-septados, ordinariamente bifurcados no apice, Fig. 5, produzindo-se dois ramos que se dilatam em vesiculas globoso-deprimidas, dotadas de 4—8 esterígmas ou de esterigmas em numero indefinido. Fig. 6; às vezes, porém, essas

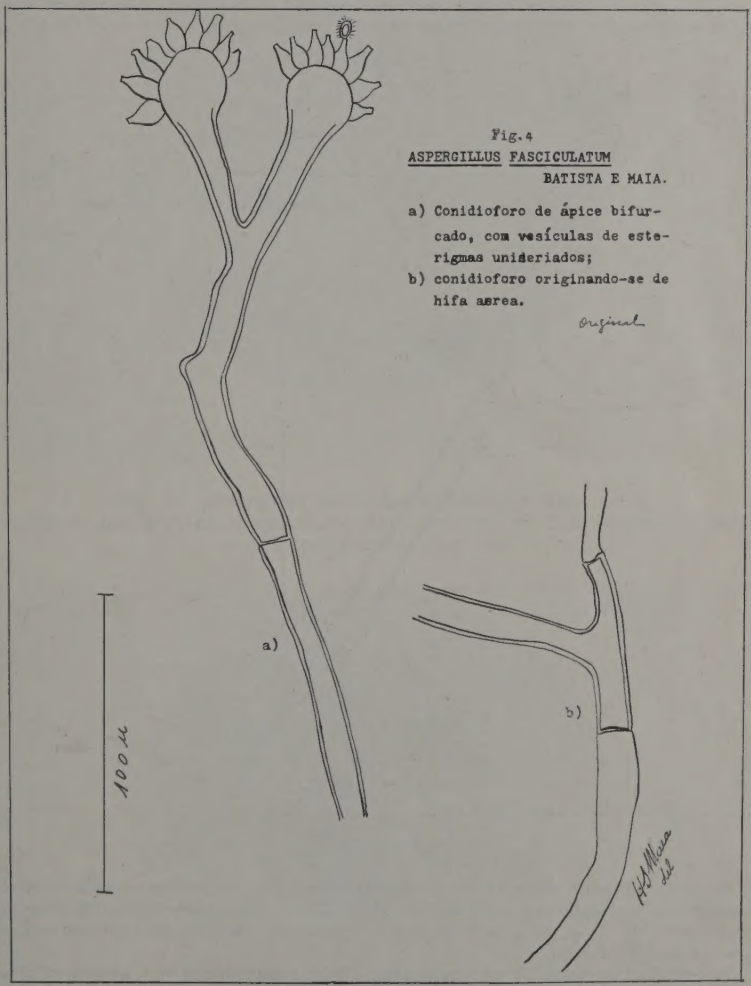

Fig. 4.

ramificações não chegam a constituir ramos, dilatando-se desde a base, para a formação de vesículas clavadas, Fig. 7.

Alguns „strains" portam-se quasi caracteristicamente como dotados de conidióforos multiramificados, com ramos em número de 3 e 4, os quais, por seu turno se entumescem na extremidade livre, dando vesiculas subglobosas; essas ramificações

derivam da porção terminal do conidióforo, a partir de um septo, Fig. 8 ou aparecem ao longo do conidióforo, Fig. 9, o que empresta assim à frutificação conidial o aspecto fasciculado Fig. 10, que deu o nome à espécie do fungo.

As vesiculas dos conidióforos indivisos, isto é, não ramificados, apresentam-se com uma única série de esterígmas, Fig. 2a, de disposição intrincada, Fig. 12, ou têm duas séries de esterígmas Fig. 11, assemelhando-se, nêsse caso, a *Aspergillus-flavus* Link; são globosas, subglobosas ou conoides, (dome like), hialinas ou levemente esverdeadas, de paredes finas, inteiramente ferteis, 34—67,5 × 22,5—67, 5μ

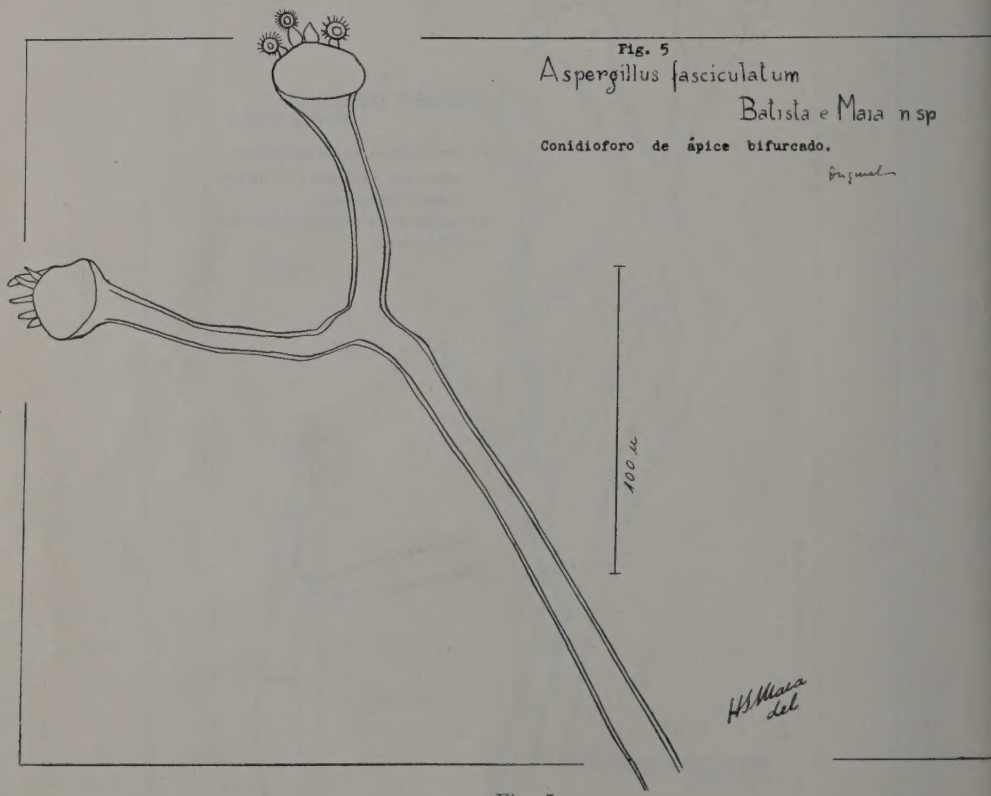

Fig. 5

de diâmetro, quando dotadas de esterígmas biseriados; os esterígmas primários são cuneiformes, radiantes, hialinos, de 7,8—17 × 5,5—7, 8μ; os esterígmas secundários, em número de 2—3 para cada esterígma primário, mostram-se lageniformes, de 7,8—11 × 3,3—4,5 μ.

As vesiculas de conidióforos ramificados, globoso-deprimidas ou truncado-cônicas, de paredes hialinas ou amareladas, delicadas, só em parte férteis, medem de 16—21 × 7,8 —15μ, e, conquanto eventualmente se apresentem com duas séries de esterígmas, em geral revelam-se uniseriadas, Fig. 13, com esterígmas lageniformes, hialinos ou amarelados, de 6,7—10 × 3,5—5,6μ.

Ao lado dessa complexa variação morfologica do conidióforo, Fig. 14, algumas linhagens exibem transformações das próprias vesículas, as quais se manifestam especialmente sôbre conidióforos normais, não ramificados, raras vezes ocorrendo igualmente sôbre conidióforos bifurcados ou ramosos.

Fig. 6. *Aspergillus fasciculatum* Batista e Maia, n. sp.
Conidioforo não septado apresentando duas vesículas; ao lado esquerdo é visto um conidioforo normal. Orig. 400 ×

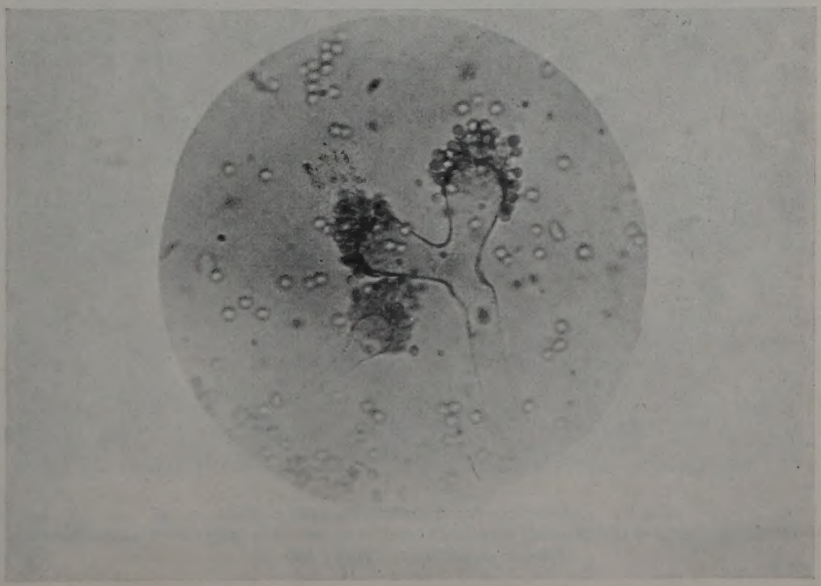

Fig. 7. *Aspergillus fasciculatum* Batista e Maia, n. sp.
Conidioforo bifurcado e bifurcações dilatadas em vesículas uniseriadas, vendo-se ao

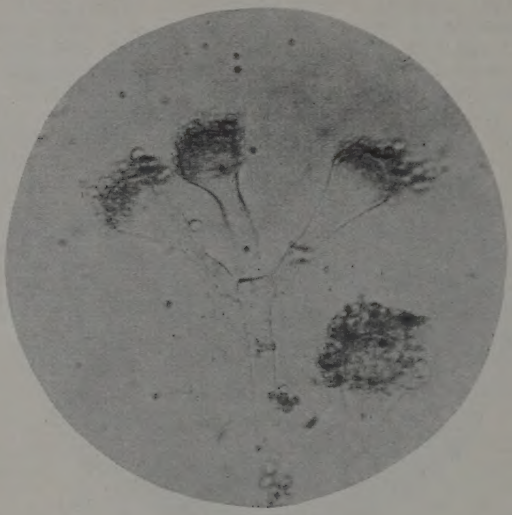

Fig. 8. *Aspergillus fasciculatum* Batista e Maia, n. sp.
Conidioforo com três vesículas inseridas no septo apical, observando-se uma vesicula normal ao lado direito. Orig. 430 ×

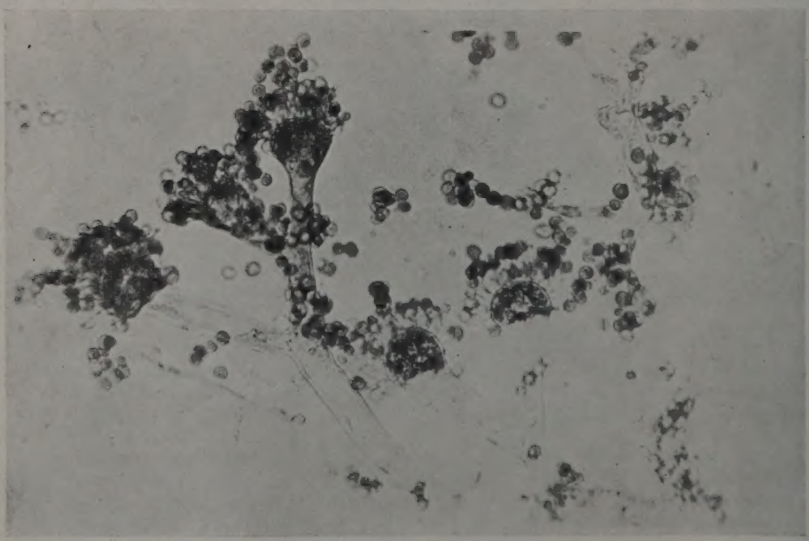

Fig. 9. *Aspergillus fasciculatum* Batista e Maia, n. sp.
Conidióforos bi e trifurcados, no último caso, com os ramos originados lateralmente, sôbre o conidioforo. Orig. 400 ×.

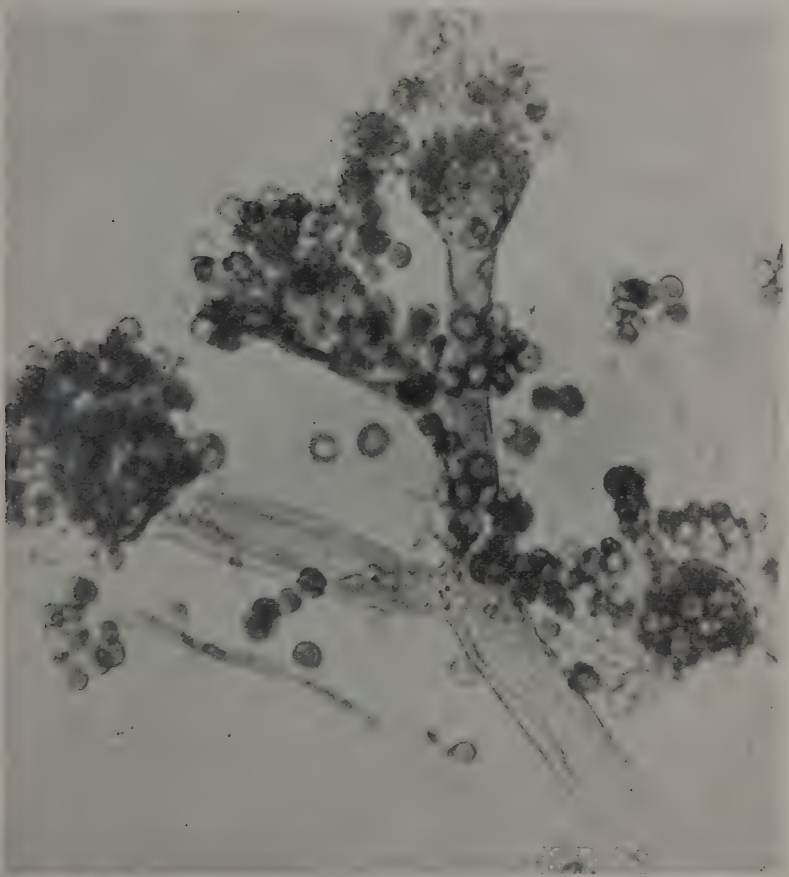

Fig. 10. *Aspergillus fasciculatum* Batista e Maia, n. sp.
Detalhe da ramificação do conidioforo para a produção de "cabeças" anormais, cujo conjunto dá á vegetação do fungo o caráter de frutificação conidial fasciculada. Parte da Fig. 4, 400 ×. Ampliada 2·× Original.

Essas transformações consistem propriamente no alongamento dos esterígmas — esterígmas proliferantes — e na proliferação de esterígmas alongados e de pseudo-conidióforos, êstes com o ápice dilatado em vesícula, à maneira de *Aspergillus gracilis* — Bainier ou de *Aspergillus proliferans* G. Smith.

Excepcionalmente, ao longo de um conidióforo ou mesmo no ápice dêste, desenvolve-se um entumescimento, como se fôra um „grampo conectivo" o qual se individualisa em vesícula lateral, enquanto o conidióforo continua o seu crescimento; essa vesícula possui esterígmas alongados, anormais e pseudo-conidióforos com a porção final constituida em nova vesícula, com uma série de esterígmas, Fig. 15.

São raras as vesículas dotadas simplesmente de esterígmas alongados, como uma indicação de que a tendência deles é para originar vesículas secundárias; tais esterígmas alongados dominam inteiramente a região vesicular fértil, apresentando-se

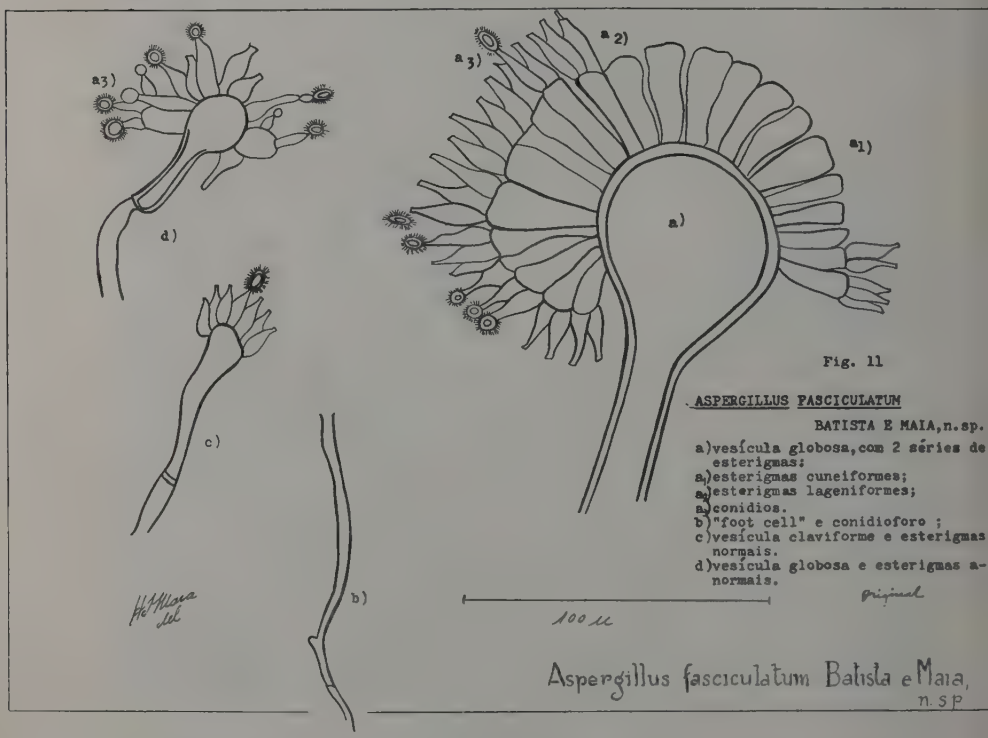

Fig. 11.

uni ou plurisseptados, de 25—35 × 3,5—5,5μ, ou se acham de permeio com esterígmas normais, lageniformes, Fig. 17.

As vesículas proliferantes em pseudo-conidióforos e vesículas secundárias, terciárias e quaternárias, ao contrário, são bastante frequentes, nelas aparecendo pseudo-conidióforos, ou esterígmas modificados, que dão lugar aos entumescimentos vesiculares, Fig. 16.

Os conidios são globosos, subglobosos ou elipsoides, amarelos ou esverdeados, de episporio espesso e espinescente, alguns „strains" exibindo-os com um apículo bem distinto, 3,4—4,5 × 2,8—5μ, isolados ou reunidos em curtas cadeias, de 25 –37μ de extensão.

As variações morfológicas das vesículas de que a Fig. 17 nos dá conta, são in-

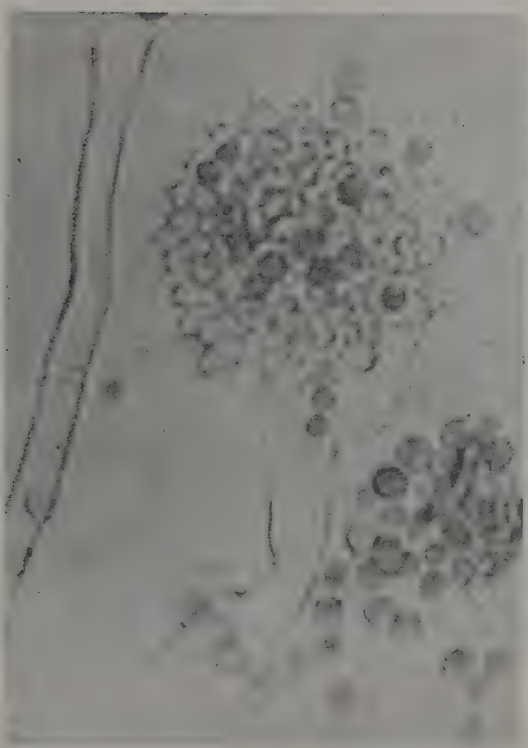

Fig. 12. *Aspergillus fasciculatum* Batista e Maia, n. sp.
Parte de conidioforo e vesícula detalhando a disposição intricada de esterigmas uniseriados. Orig. 400 × ampl. 2 ×.

frequentes em outros meios de cultura e a diferenciação de vesículas secundárias e terciárias é difícil de observada.

Sôbre malte-agar as colonias atingem a 9 cm. de diametro, aos 10—12 dias e à temperatura de 26—28°C, conspicuamente zonadas, planas, de tonalidade verde-amarelada ou verde-cinza, inodoras, sem exsudato, e de reverso branco-sujo, nelas não se desenvolvendo cleistotecios ou esclerocios. Os conidióforos alcançam de

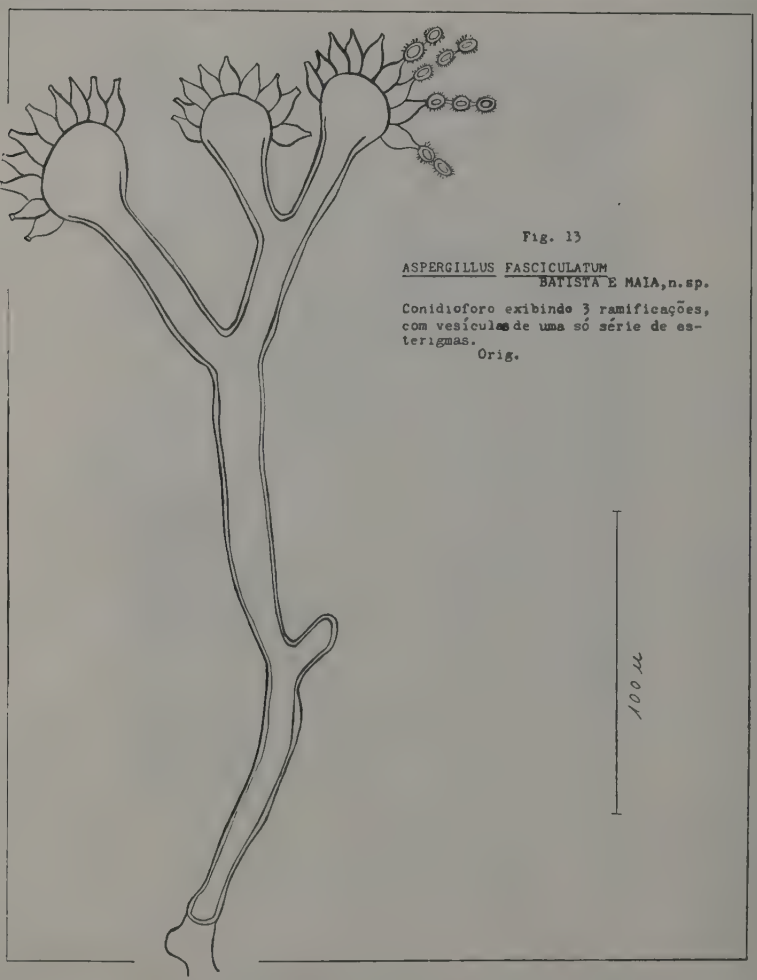

Fig. 13

280—500 × 8,4—14μ, permanecendo indivisos ou seja sem ramificações. As vesículas geralmente são de tipo normal, subglobosas com uma única série de esterígmas, e medindo de 7,8 –33,7 × 6,7—28μ ou apresentam-se como proliferantes, sua proliferação, entretanto limitada a esterígmas alongados, cujo aspecto até certo ponto se confunde com hifas do micélio. Os esterigmas normais têm o tipo lageniforme, de ápice rombudo, 7,8—11 × 2,2—3,3μ; demais caracteristicas análogas às que foram descritas para Czapek-agar.

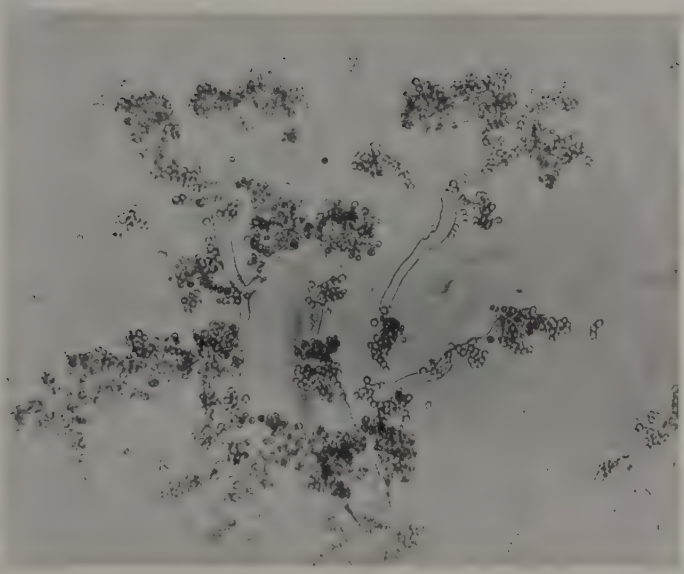

Fig. 14. *Aspergillus fasciculatum* Batista e Maia, n. sp.
Grupos de conidioforos não ramosos e com duas e três ramificações, de aspecto fasciculado. Orig. 200 ×.

Sôbre ,,corn-steep-agar'' as colonias são de crescimento bem menor, chegando somente a 2—4 cms. de diâmetro, aos 10—12 dias e à temperatura ambiente de 26—28°C; a sua superfície é tambem plana, velutina-flocosa, verde-amarelada, nela não se notando entretanto, zoneamento; não se desenvolvem esclerocios, nem odor, nem exsudato; o reverso é plano, de coloração amarelo-laranja, brilhante. Os conidioforos, vesículas e conidios ocorrem como do tipo normal constituido sôbre Czapek agar.

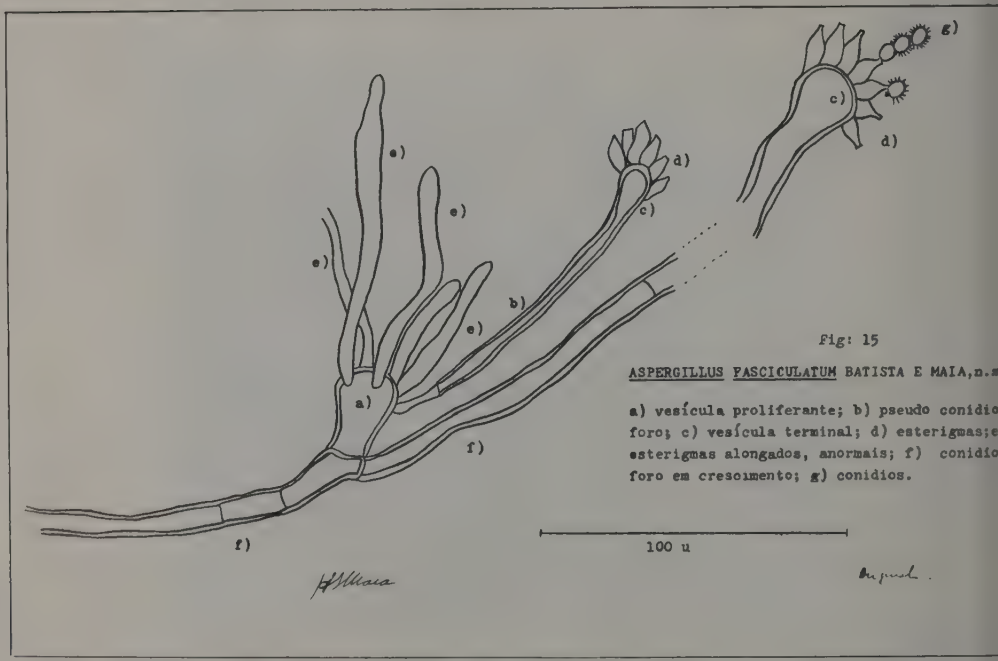

Fig: 15

ASPERGILLUS FASCICULATUM BATISTA E MAIA,n.s

a) vesícula proliferante; b) pseudo conidio foro; c) vesícula terminal; d) esterigmas; e esterigmas alongados, anormais; f) conidio foro em crescimento; g) conidios.

Fig. 15

Em batata-dextrose-agar o desenvolvimento das colonias não ultrapassa de 8 cms. de diâmetro, aos 10—12 dias, e à mesma temperatura ambiente; a superfície das colonias de coloração verde-amarelada, é fortemente zonada, Fig. 18, tambem sem exsudato e sem esclerocios; inodoras; o reverso é branco-sujo ou roseo-amarelado. A frutificação conidial pouco discrepa da de tipo normal, sôbre Czapek-agar.

O fungo ora descrito foi isolado como contaminante de cultura, no Laboratório, em 30.10.52 e tambem como contaminante de *Fusarium sp.*, em 29.9.54. Leg. A. C. BATISTA. Tipo no 236 isotipo no 101, no Instituto de Micologia, da Universidade do Recife. Enquadra-se no grupo *Aspergillus flavus — oryzae.*

,,Coloniae in agaro Czapekii neutro expandentes, planae, tenues, mycelio vegeto submerso dein aereo-floccoso, pauci zonatae, viride in

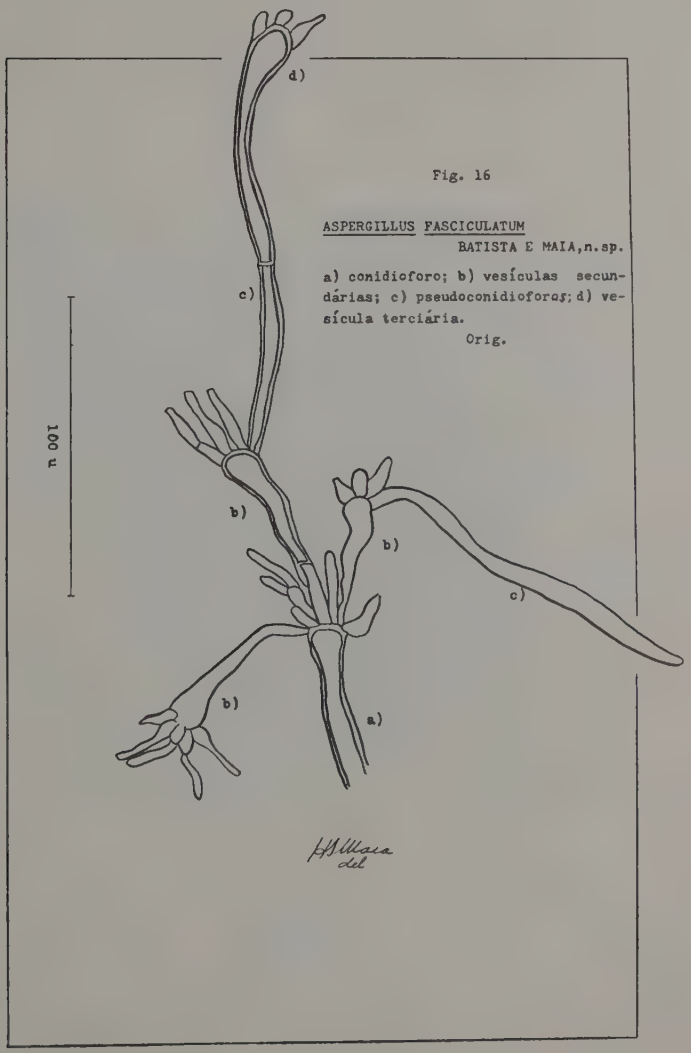

Fig. 16

ASPERGILLUS FASCICULATUM
BATISTA E MAIA, n.sp.

a) conidioforo; b) vesículas secundárias; c) pseudoconidioforos; d) vesícula terciária.

Orig.

Fig. 16

centro, flavido in margine, in concentrico — circulos; exsudato odoreque carentibus; reverso roseo flavido in centro, flavido viride in margine. Conidiophoris erectis cum angusta cellula pes, longissimis, 675—1643 × 14—17 *μ vel hiphae ramosae derivatim, septatae vel non, membrana flavida, rugosa, vel formas inaequalitas in apice bifurcatis, vel lateralis ramosarum cum membrana laeves; vesicula normaliae globosae vel conoideae, toto fertilis,* 34—67,5 × 22,5—67,5 *μ, sterigmatibus* 1—2 *seriatim et vesiculae anormaliae truncato-conoideae, hyalinae vel flavidae non totus fertilis,* 16—21 × 7,8—15 *μ, sterigmatibus* 1—2 *seriatim vel prima renidens, cuneiformibus,* 7,8—17 × 5,6—7,8 *μ; secundarius in* 2—3 *verticillis, lageniformis,* 7,8—11 × 5,5—7,8 *μ. In vesiculae proliferantibus, sterigmatibus alicubi elongati usque* 25—35 × 3,5—5 *μ vel toto mutatione in vesiculas secundarias. In vesiculae uni seriatim sterigmatibus lageniformis,* 6,7—10 × 3,3—5,6 *μ. Conidiis globosis, subglobosis vel ellipticis flavidis, echinulatis,* 3,4—4,5 × 2,8—5 *μ, in columnis usque* 25—37 *μ longis. Peritheciis absentis. Sclerotia primum albida, dein nigra, parenchymatica.*

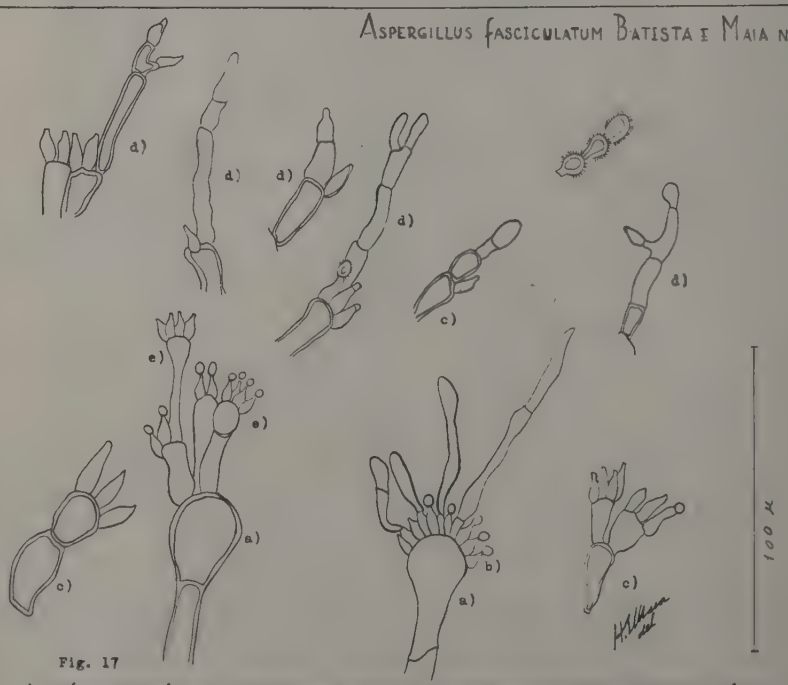

Fig. 17

a) vesículas primárias; b) esterigmas normais; c) esterigmas cuneiformes com duas séries de esterigmas anormais; d) esterigmas alongados, anormais; e) vesículas secundárias. Orig.

Fig. 17

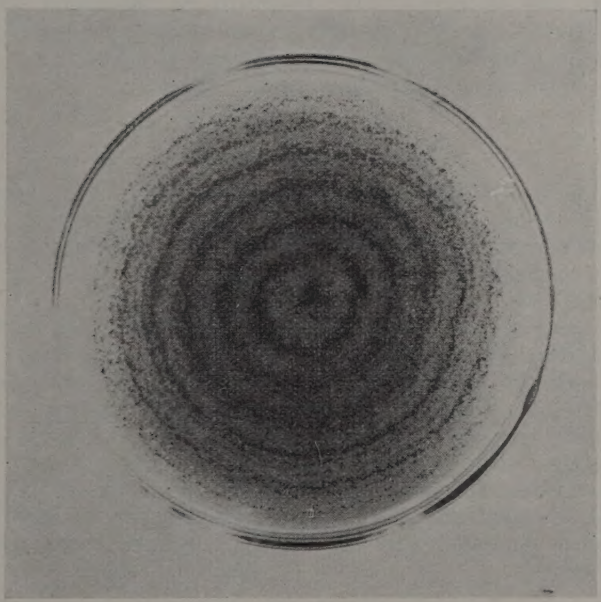

Fig. 18. *Aspergillus fasciculatum* Batista e Maia, n. sp. Colônia, aos 10 dias, em batata dextrose-agar. Orig.

Coloniae in malti-agaro pauci distincte, viride-flavidae vel viride-cinereae, cum reverso albido-sordido; cleistothecia et sclerotia non formantibus. Conidiophoris non ramosis, 280—500 × 8,4—14 μ; *vesiculae globosae, sterigmatibus* 1 *seriatim vel proliferantibus.*

In „corn-steep" agaro coloniae restrictae viride-flavidae, planae, velutino-floccosae, non zonatae; reverso aurantiaco.

In „potato-dextrose" agaro coloniae expandentes viride-flavidae, exsudato et odoreque carentibus, reverso albido-sordido vel roseo-aurantiaco. Conidiophoris et vesiculis similibus cum fructificatione normali in Czapeki-agaro. Cleistotheciis et sclerotiis absentis.

Typus, 236, isotypus 101, Instituto de Micologia, Universidade do Recife. Leg. A. C. Batista, in contaminatione in Laboratorio 30.10.52 et *Fusarium sp.* contaminatione 22.9.54.

Prov. Pernambuci, Brasiliae, Amer. Austr.

Summary

Aspergillus fasciculatum n. sp. has been found as contaminant of Lab. cultures, on 30.10.1952 and again on 29.9.1954. It grows well in Czapek neutral agar, as well as in Malt agar and Potato-dextrose-agar, less intensively in Corn steep agar.

Other media have not been tried so far.

It presents conidiophores smooth or rough, yellowish, septated or not, undivided or branching at the apex, supporting then 2 vesicles or yet with the apex trifurcated or turning into branches, each swelling to form vesicles, side by side, with single head conidiophores.

Abnormal structures in which the sterigma becomes a second conidiophore with a vesicle, were found very common. Normal structures present vesicles with two and one series of sterigmata.

Having its connections within the Flavus-oryzae group, by these outstanding characteristics not reported before, it was considered a new species.